

**UJI AKTIVITAS INHIBISI XANTIN OKSIDASE EKSTRAK
METANOL KULIT DAN BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon*)
SECARA *IN-VITRO***



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

JENJEN AL FAUZI

K100120045

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS INHIBISI XANTIN OKSIDASE EKSTRAK METANOL
KULIT DAN BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon*) SECARA *IN-VITRO***

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

JENJEN AL FAUZI

K100120045

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Arifah Sri Wahyuni, M.Sc,Apt.

NIK. 872

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS INHIBISI XANTIN OKSIDASE EKSTRAK METANOL
KULIT DAN BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon*) SECARA *IN-VITRO***

OLEH
JENJEN AL FAUZI
K100120045

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Senin, 11 November 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

(Ketua Dewan Penguji)

2. Ika Trisharyanti D.K, M.Farm., Apt

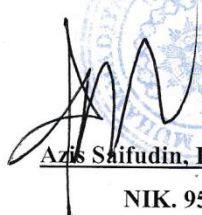
(Anggota I Dewan Penguji)

3. Arifah Sri Wahyuni, M.Sc,Apt.

(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,


Azis Saifudin, Ph.D., Apt.
NIK. 956

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, Senin, 11 November 2019

Penulis



JENJEN AL FAUZI

K100120045

UJI AKTIVITAS INHIBISI XANTIN OKSIDASE EKSTRAK METANOL KULIT DAN BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon*) SECARA *IN-VITRO*

Abstrak

Melinjo (*Gnetum gnemon*) memiliki kandungan flavonoid dan resveratrol yang telah terbukti menghambat asam urat. Penelitian ini ditujukan untuk menetapkan aktivitas penghambatan xantin oksidase secara *in vitro*. Sumber enzim yang digunakan berasal dari ekstraksi susu sapi segar. Penghambatan aktivitas xantin oksidase oleh ekstrak metanol kulit dan biji melinjo secara *in vitro* ditentukan melalui penurunan produksi asam urat yang dimonitor dengan spektrofotometer UV-VIS pada (λ) 290 nm dengan xantin sebagai substrat. Pengujian masing-masing ekstrak dilakukan dengan membuat 7 seri konsentrasi 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, dan 250 ppm. Nilai rate yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai aktivitas. Kemudian ditentukan IC₅₀. Sebagai pembanding digunakan allopurinol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit dan biji melinjo mampu menghambat aktivitas xanthine oksidase secara *in vitro* pada kadar 100 ppm sebesar 63.53 % dan 58.90%, sedangkan pembanding allopurinol pada kadar 62.5 ppm sebesar 80.03%.

Kata Kunci: melinjo, asam urat, xantin oksidase, *in vitro*.

Abstract

Melinjo (*Gnetum gnemon*) contains flavonoids and resveratrol which have been shown to inhibit uric acid. This study aimed to determine the inhibitory activity of xanthine oxidase *in vitro*. The source of the enzyme used comes from the extraction of fresh cow's milk. Inhibition of xanthine oxidase activity by methanol extracts of skin and melinjo seeds *in vitro* was determined through decreased uric acid production which was monitored with a UV-VIS spectrophotometer at (λ) 290 nm with xanthine as a substrate. The testing of each extract was carried out by making 7 series of concentrations 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, and 250 ppm. The obtained rate value is then used to calculate the activity value. Then determined IC₅₀. As a comparison allopurinol is used. The results showed that the methanol extract of the skin and seeds of melinjo were able to inhibit the activity of xanthine oxidase *in vitro* at levels of 100 ppm by 63.53% and 58.90%, while the comparison of allopurinol at 62.5 ppm levels was 80.03%.

Keywords: Melinjo, uric acid, xanthine oxidase, *in vitro*.

1. PENDAHULUAN

Hiperurisemia merupakan keadaan yang menunjukkan peningkatan kadar asam urat dalam darah di atas nilai normal. Penyebab tingginya asam urat dalam darah dapat disebabkan oleh beberapa hal, seperti adanya gangguan metabolisme purin bawaan, adanya kelainan pembawa sifat atau gen, kelebihan mengonsumsi makanan berkadar purin tinggi dan efek dari penyakit seperti leukemia, kemoterapi dan radioterapi (Murray, 2014). Xantin oksidase memiliki peranan penting dalam proses pembentukan asam urat dengan mengkatalisis berturut-turut hipoxantin menjadi xantin kemudian asam urat. Penghambatan xantin oksidase dapat menghambat sintesis asam urat dalam tubuh yang menjadi salah satu pendekatan terapeutik untuk pengobatan hiperurisemia (Huang *et al.*, 2011).

Pengobatan penyakit asam urat umumnya dilakukan dengan obat yang dapat menghambat aktivitas kerja enzim xantin oksidase sehingga mampu mengontrol katabolisme purin dalam tubuh. Salah satu obat sintetis yang digunakan untuk terapi asam urat adalah Allupurinol (Dawson & Walters, 2006). Informasi ilmiah mengenai efek tumbuhan obat terhadap penghambatan kerja enzim xantin oksidase masih terbatas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian secara ilmiah mengenai senyawa bioaktif tanaman sebagai inhibitor alami xantin oksidase dan pemanfaatan tumbuhan Melinjo sebagai obat anti hiperurisemia dengan menghitung persentase inhibisi enzim xantin oksidase yang kemudian akan dibandingkan dengan standar penghambat xantin oksidase yaitu allopurinol dan digunakan sebagai alternatif dalam pengobatan.

Berdasarkan penelitian Wulandari & Muntholib (2010), ekstrak etanol kulit melinjo memiliki aktivitas sebagai inhibitor xantin oksidase. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan aktivitas enzim. Diperoleh aktivitas inhibisi xantin oksidase ekstrak etanol kulit melinjo muda mentah dan direbus pada konsentrasi 100 ppm setara dengan allopurinol 19.9 ppm dengan % daya inhibisi sebesar 54.55% (Wulandari & Muntholib 2010). Penelitian Tanaka *et al.* (2001) menyebutkan bahwa beberapa spesies *Gnetum* mengandung stilbenoid dari akar *Gnetum gnemon* (Tanaka *et al.*, 2001). Melinjo juga memiliki kandungan Resveratrol dan flavonoid yang terdapat pada bagian biji dan kulit biji (Kato *et al.*,

2009, 2011). Pada kulit melinjo mengandung asam askorbat, tokoferol, dan polifenol yang berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase (Marthaet *al.*, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan aktivitas inhibisi xantin oksidase ekstrak metanol kulit dan biji melinjo (*gnetum gnemon*) secara *in-vitro*.

2. METODE

Penelitian ini merupakan kategori penelitian eksperimental karena pada penelitian ini terdapat perlakuan pada uji yang berupa penambahan ekstrak metanol kulit, biji melinjo, dan enzim xantin oksidase.

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Bahan

Kulit dan biji melinjo kering, metanol 70%, susu sapi segar (enzim xantin oksidase), substrat xantin (Sigma Aldric), buffer fosfat pH 7.5, allupurinol, NaCl, NaOH, KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, dan aqua bebas CO₂.

2.1.2 Alat

Alat-alat gelas (*Pyrex*), oven, *Rotary Evaporator*, corong *buchner*, mikro pipet (*Socorex*), *blue tip*, *yellow tip*, kertas saring, spatula, spektrofotometri UV-VIS mini (*Shimadzu*), timbangan analitik, kuvet, sentrifugasi, eppendorf, vortex, flacon dan pH meter.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Penyiapan Ekstrak Metanol Kulit dan Biji Melinjo

Sebanyak masing-masing 1 kg kulit dan biji melinjo dicuci hingga bersih dan ditiriskan hingga kering. Dirajang kecil, kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 55⁰C selama ±30 menit. Dimasukkan ke dalam botol maserasi kemudian tambahkan metanol 70% sampai terendam dan dimaserasi masing-masing selama 3 hari sebanyak tiga kali pengulangan. Maserat disaring dengan corong *buchner*, kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, didapatkan ekstrak kulit dan biji melinjo kemudian ekstrak dituang kedalam cawan penguap dan diuapkan di atas *waterbath* hingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental kulit dan biji melinjo yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian.

2.2.2 Pengambilan Xantin Oksidase

Xantin oksidase diperoleh dari susu sapi segar sebanyak 50 mL susu sapi dipanaskan hingga suhu 30°C. Kemudian ditambahkan 16.336 g NaCl dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Dipisahkan supernatan dengan cream. Supernatan yang diperoleh difraksinasi dengan 8 g amonium sulfat pada suhu 4°C menggunakan penangas es untuk menjaga stabilitas enzim, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm suhu 4°C selama 20 menit menggunakan *ultrasentrifuge*. Fraksi Residu yang didapat sebanyak 0.5 mL diambil kemudian dilarutkan dalam larutan buffer fosfat 0.2 M pH 7.5 hingga 50 mL. Larutan residu yang diperoleh digunakan sebagai sampel enzim xantin oksidase dan disimpan di lemari es.

2.2.3 Uji Aktivitas Xantin Oksidase

Pengujian aktivitas xantin oksidase berdasarkan Bergmeyer *et al* (1975), sebanyak 1 mL xantin 0.15 mM ditambahkan 1.8 mL buffer kalium fosfat 0.2 M pH 7.5. Kemudian campuran tersebut diukur serapannya pada λ 290 nm hingga konstan. Selanjutnya, ditambahkan 0.2 mL xantin oksidase, diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar (25 °C) dan diukur serapannya pada λ 290 nm setiap 10 menit sampai menit ke 40. Larutan buffer xantin digunakan sebagai blanko. Pada uji aktivitas xantin oksidase, absorbansi yang diukur merupakan jumlah produksi asam urat. Sehingga perhitungan konsentrasinya ditentukan berdasarkan hukum Lambert-Beer (Bergmeyer *et al.*, 1975).

2.2.4 Uji Inhibisi Xantin Oksidase

Pada pengujian terhadap daya Inhibisi aktivitas enzim xantin oksidase digunakan substrat xantin dan enzim xantin oksidase. Enzim yang digunakan adalah enzim yang sudah diperoleh dari susu sapi. Sampel ekstrak kulit dan biji melinjo masing-masing dilarutkan dalam beberapa tetes NaOH dan ditambah air bebas CO₂ sampai volume 10 mL. Hingga didapat 7 seri konsentrasi 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, dan 250 ppm. Setiap konsentrasi ekstrak dipipet sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan buffer kalium fosfat 0.2 M pH 7.5 sebanyak 1.8 mL dan larutan substrat xantin 0.15 mM sebanyak 1 mL dicampurkan ke dalam tabung reaksi tertutup kemudian di vortex dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar (25 °C). Ditambahkan enzim xantin oksidase sebanyak 0.2 mL. Setiap campuran diukur

absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV pada λ 290 nm setiap 10 menit dari menit 0 sampai menit 40. Volume total yang didapat pada kuvet adalah 3 mL. Dengan perlakuan yang sama dilakukan pengujian inhibisi pada larutan allopurinol sebagai pembanding. Percobaan diulang sebanyak 3 kali.

2.2.5 Analisis Data

Pada uji aktivitas xantin oksidase, absorbansi yang diukur merupakan jumlah produksi asam urat. Sehingga perhitungan konsentrasinya ditentukan berdasarkan hukum Lambert-Beer dapat dihitung konsentrasi asam urat pada λ 290 nm dengan rumus berikut: $A = \epsilon \cdot b \cdot C$

Keterangan: A : adalah absorbansi asam urat pada λ 290 nm,
e : adalah koefisien ekstingsi molar asam urat pada pH 7,5
dan λ 290 nm sebesar 12,2 mM⁻¹cm⁻¹,
b : adalah lebar kuvet 1 cm,
C : adalah konsentrasi asam urat (mM).

Sedangkan aktivitas enzim diperoleh dari persamaan linier kurva waktu terhadap konsentrasi asam urat.

(Bergmeyer *et al.*, 1975).

Analisis data dilakukan dengan cara menghitung presentase inhibisi xantin oksidase oleh ekstrak. Aktivitas inhibisi dihitung berdasarkan rumus berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

Keterangan :

A (Absorban kontrol) : serapan enzim tanpa kehadiran ekstrak sampel dikurangi serapan tanpa kehadiran enzim dan ekstrak sampel (Blanko).

B (Absorban sampel): serapan enzim dengan kehadiran ekstrak sampel dikurangi serapan ekstrak sampel tanpa kehadiran enzim.

Dari data masing-masing konsentrasi larutan sampel dan % inhibisi tersebut dapat dibuat kurva sehingga dapat diperoleh persamaan regresi linearnya $y = a + b x$. Dimana x adalah konsentrasi sampel dan y adalah % inhibisi. IC₅₀ larutan sampel adalah konsentrasi larutan sampel yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear (Dira *et al.*,

2015). Setelah diketahui rumus persamaan regresi, nilai IC50 dicari dengan cara mensubstitusi nilai y dengan 50, kemudian dicari nilai x ($\mu\text{g/mL}$) (Tamta *et al.*, 2006)

$$\text{IC}_{50} = \frac{50-a}{b}$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan aktivitas penghambatan xantin oksidase dari ekstrak metanol kulit dan biji melinjo (*Gnetum gnetum*) secara *in vitro*. Pada penelitian Tanaka *et al.*, (2001) menyebutkan bahwa beberapa spesies *Gnetum* mengandung stilbenoid, diketahui tiga trimer stilbene baru yaitu gnetonols D (1), E (2), dan F (3) dari akar *Gnetum gnetum*. Melinjo juga memiliki kandungan Resveratrol (*trans*-3,4,5-trihydroxystilbene), gnetin C (GC; resveratrol dimer), gnetin L (GC derivative), gnetonol A (GC-diglucoside), gnetonol C (GC-monoglucoside), gnetonol D (GC-monoglucoside) dan flavonoid yang terdapat pada bagian biji dan kulit biji (Kato *et al.*, 2009, 2011) merupakan famili dari stilbene senyawa fenolik (Ruan *et al.*, 2012). Pada Kulit melinjo mengandung asam askorbat, tokoferol, dan polifenol yang berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase (Martha *et al.*, 2010).

Xantin merupakan senyawa kimia 2,6-dioksimurin atau 2,6-purinadion. Zat ini merupakan suatu basa purina yang terdapat dalam darah, air seni, dan hati yang nantinya diubah menjadi asam urat untuk diekskresikan. Perubahan xanthin menjadi asam urat melibatkan xantin oksidase yang merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri atas 1332 residu asam amino, molibdenum (HO_2SMo), FAD, dan Fe_2S_2 sebagai pusat reaksi redoks. Enzim ini akan mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Sehingga, jika enzim ini dihambat tidak akan terjadi peningkatan kadar asam urat dalam tubuh (Field *et al.*, 1996). Xantin oksidase dapat diperoleh dari susu sapi segar, yang merupakan salah satu sistem koloid yang mengandung sejumlah mineral, protein dan enzim (Corran *et al.*, 1939).

Tahap awal sebelum menghitung daya inhibisi adalah penentuan kurva standar asam urat. Aktivitas enzim diukur berdasarkan absorbansi dari produk asam urat yang terbentuk dari reaksi antara enzim dan substrat. Enzim xantin oksidase

yang digunakan pada analisis aktivitas enzim xantin oksidase diambil dari fraksi residu dari susu sapi segar dan substrat yang digunakan adalah substrat xantin (Sigma Aldric). Dibaca dengan *spektrofotometri UV-Vis* dengan panjang gelombang 290 nm. Panjang gelombang tersebut dipilih berdasarkan absorbansi asam urat pada λ 290 nm (Bergmeyer *et al.*, 1975). Pada tabel 1 menunjukkan hasil aktivitas enzim dari fraksi residu yang di uji, pada menit 30 merupakan puncak aktivitas enzim tertinggi dari fraksi residu sehingga pada menit ini digunakan sebagai waktu inkubasi pengambilan data pada pengujian inhibisi enzim xantin oksidase ekstrak sampel. Aktivitas enzim xantin oksidase hasil isolasi dari susu diperoleh sebesar 0,022 U/mL (Tabel 1)

Tabel 1. Hasil uji aktivitas enzim xantin oksidase dari susu sapi yang diamati dari menit ke-0 sampai menit 40

Hasil	Waktu (menit)	Absorbansi (nm)	Konsentrasi asam urat (mM)	Aktivitas enzim (U/mL)
Fraksi residu	0	0.243	0.020	0.022
	10	0.362	0.030	
	20	0.547	0.045	
	30	0.668	0.054	
	40	0.668	0.054	

Uji aktivitas penghambatan xantin oksidase kedua ekstrak ini dilakukan dengan menghitung persentase inhibisi enzim xantin oksidase yang kemudian akan dibandingkan dengan standar penghambat enzim xantin oksidase yaitu allopurinol. Kontrol positif dipilih allopurinol, karena senyawa ini mampu menurunkan asam urat melalui penghambatan xanthin oksidase. Kemampuan allopurinol dalam menghambat xantin oksidase ditunjukkan dengan nilai IC_{50} kurang dari 0,24ppm (Tabel 2).

Analisis % inhibisi enzim xantin oksidase ekstrak metanol kulit dan biji melinjo sebagai sampel dengan menggunakan 7 seri konsentrasi 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, dan 250 ppm. Perbedaan konsentrasi ini bertujuan untuk melihat pengaruh konsentrasi pada % inhibisi ekstrak uji terhadap aktivitas enzim. Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit dan biji melinjo mampu megambat enzim xantin oksidase secara *in vitro* namun tipe penghambatannya perlu diteliti lebih jauh pada range konsentrasi yang lebih beragam karena hasil uji menunjukan korelasi yang negatif, semakin tinggi konsentrasi sampel ekstrak maka % inhibisi

yang dihasilkan semakin rendah dan sebaliknya semakin rendah konsentrasi sampel ekstrak % inhibisi yang dihasilkan semakin tinggi.

Tabel 2. Hasil rata-rata daya inhibisi (%) dari allopurinol, ekstrak kulit dan biji melinjo

Sampel	Kadar (ppm)	Rata-rata Abs (nm)	Rata-rata As. Urat (mM)	Rata-rata % inhibisi
Allopurinol	0.24	0.306	0.025	54.14
	0.97	0.265	0.022	60.22
	3.9	0.218	0.018	67.26
	15.63	0.182	0.015	72.75
	62.5	0.133	0.011	80.03
Ekstrak Biji Melinjo	3.9	0.147	0.012	77.98
	7.8	0.155	0.013	76.74
	15.6	0.175	0.014	73.80
	31.3	0.217	0.018	67.46
	62.5	0.249	0.020	62.72
	125	0.291	0.024	56.38
	250	0.365	0.030	45.30
Ekstrak Kulit Melinjo	3.9	0.054	0.004	91.92
	7.8	0.083	0.007	87.57
	15.6	0.103	0.009	84.58
	31.3	0.128	0.011	80.89
	62.5	0.191	0.016	71.41
	125	0.279	0.023	58.28
	250	0.397	0.033	40.62

Ekstrak metanol kulit dan biji melinjo mampu menghambat aktivitas xanthine oxidase secara *in vitro* pada konsentrasi 100 ppm sebesar 63.53 % dan 58.90%, sedangkan pembanding allopurinol pada konsentrasi terkecil 0.24 ppm memiliki % inhibisi sebesar 54.14% dan meningkat seiring naiknya konsentrasihingga konsentrasi 62.5 ppm sebesar 80.03%. Pemilihan ekstrak metanol kulit melinjo sebagai inhibitor enzim xantin oksidase selain didasarkan pada penelitian (Wulandari & Malang, 2010) melaporkan bahwa ekstrak etanol dari kulit muda mentah dan muda rebus dapat menurunkan kadar asam urat dengan menghambat aktivitas enzim xantin dengan % inhibisi sebesar 54.55% (Wulandari & Malang, 2010) juga karena kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit dan biji melinjo terutama flavonoid (H. Kato *et al.*, 2011, 2009). Kandungan jenis flavonoid memiliki aktivitas menghambat kerja enzim xantin oksidase (Nagao *et al.*, 1999).

Berdasarkan hasil % penghambatan, dapat dikatakan ekstrak metanol biji dan kulit melinjo mampu menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Namun untuk

menetapkan IC₅₀ nya, perlu dilakukan pada konsentrasi yang lebih beragam. Ekstrak ini masih mengandung beberapa senyawa lain (crude extract), sehingga untuk meningkatkan aktivitasnya bisa dilakukan isolasi dan purifikasi ekstrak.

4. PENUTUP

Ekstrak metanol kulit dan biji melinjo (*Gnetum gnemon*) mampu menghambat aktivitas xantin oksidase secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bergmeyer, H. U., Gruber, W., & Gutmann, I. (1975). D-Sorbitol. In *Methods of Enzymatic Analysis* (pp. 1323–1330).
- Corran, H. S., Dewan, J. G., Gordon, A. H., & Green, D. E. (1939). Xanthine oxidase and milk flavoprotein: With an Addendum by J. St L. Philpot. *Biochemical Journal*, 33(10), 1694–1708.
- Dawson, J., & Walters, M. (2006). Uric acid and xanthine oxidase: Future therapeutic targets in the prevention of cardiovascular disease? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 62(6), 633–644. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2006.02785.x>
- Dira, D., Fitrianda, E., & Sari, N. (2015). Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Dan BUAH ASAM GELUGUR (*Garcinia atroviridis* Griff. ex. T. Anders.) secara In Vitro. *Scientia-Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 4(2), 66–70.
- Fields, M., Lewis, C. G., & Lure, M. D. (1996). Allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase, reduces uric acid levels and modifies the signs associated with copper deficiency in rats fed fructose. *Free Radical Biology and Medicine*. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02056-X](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02056-X)
- Huang, J., Wang, S., Zhu, M., Chen, J., & Zhu, X. (2011). Effects of genistein, apigenin, quercetin, rutin and astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 1943–1947. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.04.029>
- Kato, E., Tokunaga, Y., & Sakan, F. (2009). Stilbenoids isolated from the seeds of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2544–2549. <https://doi.org/10.1021/jf803077p>
- Kato, H., Samizo, M., Kawabata, R., Takano, F., & Ohta, T. (2011). Stilbenoids from the melinjo (*Gnetum gnemon* L) fruit modulate cytokine production in murine peyer's patch cells Ex vivo. *Planta Medica*, 77(10), 1027–1034. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250742>
- Martha., et al. (2010). Antioxidant and DNA Damage Prevention Activities of the Edible Parts of *Gnetum gnemon* and Their Changes upon Heat Treatment, 16(6), 549–556. <https://doi.org/10.3136/fstr.16.549>
- Murray, R. K. (2014). *Biokimia Harper Edisi 27. Igarss 2014*.

<https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

- Nagao, a, Seki, M., & Kobayashi, H. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63(10), 1787–1790. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.49.2173>
- Ruan, B.-F., Lu, X.-Q., Song, J., & Zhu, H.-L. (2012). Derivatives of resveratrol: potential agents in prevention and treatment of cardiovascular disease. *Current Medicinal Chemistry*, 19(24), 4175–4183. <https://doi.org/10.2174/092986712802430054>
- Tamta, H., Kalra, S., & Mukhopadhyay, A. K. (2006). Biochemical characterization of some pyrazolopyrimidine-based inhibitors of xanthine oxidase. *Biochemistry. Biokhimiia*, 71 Suppl 1(Iv), S49–S54. <https://doi.org/10.1134/S0006297906130086>.
- Tanaka, T., Iliya, I., Ito, T., Furusawa, M., Nakaya, K. I., Iinuma, M., ... Hirai, K. (2001). Stilbenoids in lianas of *Gnetum parvifolium*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 49(7), 858–862. <https://doi.org/10.1248/cpb.49.858>
- Wulandari, S., & Muntholib, U. (2010). Inhibisi Xantin Oksidase oleh Ekstrak Etanol Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon*) relatif terhadap Allupurinol. Malang.